

## COMPTE-RENDU

**Information médicale du 4 octobre 2008**

### COMMUNICATIONS DES MÉDECINS

#### Sommaire des communications :

**Dr Ludovic MARTIN, responsable de la consultation pluridisciplinaire  
PXE, Service de dermatologie, CHU, UMR INSERM 771 / CNRS 6214  
Université d'Angers :**

- **Actualités médicale et scientifique**
- **Activités et projets de recherche à Angers** p.3

**Dr Sébastien FAURE, maître de conférence Université d'Angers, Unité  
Mixte de Recherche INSERM 771 / CNRS 6214 « Biologie  
NeuroVasculaire Intégrée » :**

**Techniques d'exploration artérielle chez les souris Abcc6 -/-** p.7

**Florent CHUPIN, Line BOSQUET, Laurence GARNIER et Hélène HUMEAU,  
Cadre infirmier et infirmières de la consultation pluridisciplinaire PXE  
du CHU d'Angers :**

- **Organisation de la nouvelle consultation multidisciplinaire au CHU  
d'Angers** p.11

## Préambule

C'est dans le nouveau cadre de la consultation multidisciplinaire PXE au CHU d'Angers animée par le Dr Ludovic MARTIN que nous retrouvons avec très grand plaisir l'équipe médicale pour notre point annuel sur l'actualité du PXE.

Ludovic MARTIN est toujours aussi ravi de nous rendre compte de l'état des recherches sur le PXE.

La collaboration entre équipe de recherche médicale et association de patients et de leurs familles est une chance formidable pour les deux parties. PXE France et ses membres sont conscients des avancées considérables dans la compréhension de la maladie, même si le chemin à parcourir reste encore long.

PXE France renouvelle son fidèle soutien au Dr Martin et à ses collaborateurs et remercie tous les médecins et équipes médicales qui se sont joints à nous ce jour pour leur disponibilité et leur intérêt pour notre cause.

Vous trouverez dans les pages suivantes:

- ✓ les dernières actualités de la recherche sur le PXE
- ✓ des informations pratiques sur la consultation multidisciplinaire d'Angers. Les personnes s'étant rendues récemment à cette consultation peuvent témoigner de l'effort particulier de toute l'équipe médicale pour vous assurer confort et efficacité pendant les examens.

# Actualités médicale et scientifique du PXE

Docteur Ludovic Martin  
Service de dermatologie, CHU  
UMR INSERM 771 / CNRS 6214  
Université d'Angers

## Artériosclérose et PXE

- **Le « bon pronostic » de l'artériosclérose PXE ?**  
Des lésions d'artériosclérose existent chez la totalité des sujets dans la population générale. L'étude du fonctionnement des artères chez les (rares) patients PXE peut-elle être utile pour la prise en charge des (nombreux) patients souffrant d'artériosclérose ? Un espoir à confirmer...
- Dans le PXE, on constate parmi les symptômes une artériosclérose qui commence plus tôt que chez les autres personnes à risques (fumeurs, diabétiques...) mais l'artérite du PXE est moins sévère => ceci constitue une piste intéressante à explorer chez la souris (voir dans le résumé de l'intervention de Sébastien Faure).
- C'est grâce à cet argument de l'artériosclérose que la recherche peut s'intéresser au PXE car cela pourrait éventuellement déboucher sur des pistes intéressantes pour la population générale.
- **Vaisseaux des yeux et vaisseaux du reste du corps :**  
L'organisme atteint de PXE a probablement la faculté de fabriquer efficacement des néo vaisseaux pour lutter contre la défaillance vasculaire liée à l'artériosclérose, mais cette faculté pourrait être antinomique avec le développement de néo vaisseaux des yeux contre lesquelles nous voulons lutter de toute force.  
Les AVC (accidents cardio-vasculaires cérébraux) ne sont pas jusqu'ici plus nombreux dans le PXE que dans la population standard, cependant il pourrait y avoir un peu plus de maladies coronariennes.

## Souris *Abcc6* -/-

- Les souris génétiquement modifiées à l'Institut de Transgénose (Orléans) ne développent pas de PXE. Cette déconvenue provient du fait que le trans gène ne s'est pas inséré à l'endroit attendu.
- L'équipe d'Angers s'est donc tournée vers l'équipe de Bergen à Amsterdam qui a répondu positivement à la demande de partage de souris. 2 couples ont été reçus et sont en cours de reproduction pour constituer du matériel biologique.  
De même, il s'est établi une collaboration avec l'équipe du Pr A Bergen, Amsterdam pour l'étude du fonctionnement artériel des souris KO (*Abcc6* -/-).

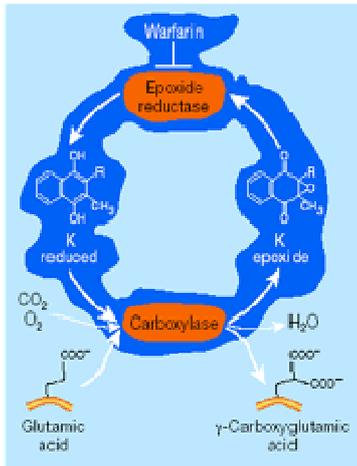
## Il y a probablement plusieurs gènes impliqués dans le PXE

- Même si cela n'est pas forcément un avis partagé parmi le microcosme médical du PXE, on est persuadé que le PXE dépend de plusieurs gènes :
  - ✓ *ABCC6* : Indiscutablement *ABCC6* est responsable du PXE mais peut être n'est il pas tout seul.
  - ✓ Maladies de l'hémoglobine : Les béta thalassémiques ont les mêmes symptômes que les PXE ou drépanocytaires et ils n'ont pas de *ABCC6* modifié.
  - ✓ *GGCX*: La découverte de *GGCX* ou « PXE variant » a beaucoup modifié l'approche du PXE.

✓ Et d'autres gènes ayant une fonction de modulateurs de gravité pourraient encore être en cause.

- **L'importance des PXE non liés au gène *ABCC6* pour la compréhension de la maladie :** 95% des patients PXE ont 1 ou 2 mutations du gène, mais beaucoup de personnes sans mutation du gène présentent des symptômes du PXE, il est possible qu'un gène modulateur puisse modifier la sévérité du PXE.

## PXE lié au gène *GGCX*



Glu

Gla

Le gène *GGCX* code pour l'activation (carboxylation) des protéines Gla, parmi lesquels les facteurs dépendants de la vitamine K... et les Gla matricielles.

Les Gla matricielles (MGP, ostéocalcine etc.) carboxylées en présence de vitamine K préviennent le dépôt de calcium dans les tissus mous (= inhibiteurs de la minéralisation).

Les Glu carboxylés deviennent Gla. *GGCX* et *VKORC1* s'équilibrent.

Chez les patients ayant un gène *GGCX* muté on constate :

- Une atteinte cutanée sévère ;
- Un assez bon pronostic ophtalmologique et cardio-vasculaire (à confirmer) ;
- Une anomalie de la coagulation et des saignements éventuels ;
- Un déficit en inhibiteurs de la minéralisation dépendants de la vitamine K dans le plasma et dans les tissus minéralisés.

## Du PXE-*GGCX* au PXE-*ABCC6*

- Les fibres élastiques calcifiées sont identiques dans les deux maladies.
- Elles expriment de façon pratiquement identique les inhibiteurs de la minéralisation.
- Il existe quelques différences dans le dosage de ces inhibiteurs dans le sang des 2 populations.

## PXE et vitamine K

- La vitamine K (ou une molécule métaboliquement proche) est-elle le substrat du transporteur *ABCC6* ? Est-elle le « facteur sérique » du PXE ? Encore beaucoup de questions sans réponse. Vers un traitement, 8 ans après la découverte de la responsabilité de *ABCC6* ? Cela reste pour l'instant une hypothèse non confirmée.
- Le design d'un essai thérapeutique de traitement par vitamine K est en cours de réflexion (Gand + Angers).
- **Attention : bien que cette information sur la vitamine K soit déjà diffusée sur les forums PXE sur internet, il ne faut absolument pas tirer de conclusion hâtive ni entamer un traitement « sauvage » sans démonstration !** On n'est pas encore certain de la façon dont elle fonctionne et sera-t-on capable d'augmenter le taux de vitamine K réellement dans le sang ? La vitamine K est responsable de caillot sanguin et pourrait en théorie aggraver les manifestations cardio-vasculaires.
- **Mais il faut espérer que l'amélioration de la néovascularisation générale ne risque pas de provoquer une amplification de la néovascularisation de la membrane de Bruch, ce**

qui va évidemment à l'inverse de ce que l'on souhaite. Aujourd'hui, nous sommes encore dans l'inconnu total.

## ABCC6 et calcifications artérielles du nourrisson (GACI)

- GACI (generalized arterial calcification of infancy) : affection entraînant le décès du nourrisson par infarctus multiples
- Liaison au gène *ENPP1* dans 2/3 des cas environ (Dr F. Rutsch, Münster)
- Il a été identifié 1 famille française avec un nourrisson mort de GACI en 1981 et un frère porteur d'un PXE
- Le nourrisson avait des fibres élastiques dermiques altérées
- L'étude génétique du garçon vivant et de ses parents a permis de montrer:
  - PXE lié à 2 mutations de *ABCC6*
  - Absence de mutations de *ENPP1* dans la famille
- Des mutations de *ABCC6* peuvent être responsables de calcifications artérielles généralisées du nourrisson

## Gènes modulateurs de la gravité du PXE ?

- Quelle est la responsabilité des polymorphismes de *ENPP1* dans la sévérité de la maladie de l'enfant ??? A déterminer.
- Il n'a pas été fait de démonstration de l'effet modulateur de *GGCX* sur le PXE classique chez les patients ayant présenté des saignements

## Travaux en cours

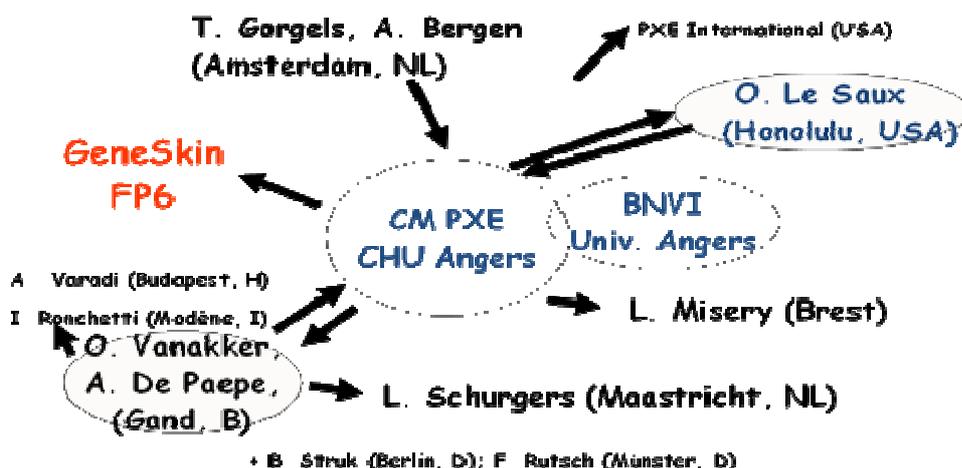
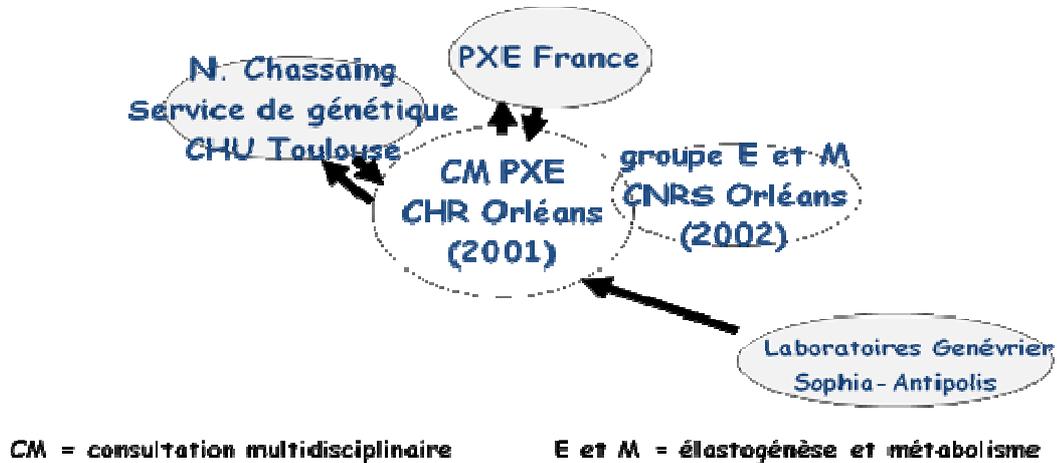
- Au niveau des collaborations internationales :
  - Physiopathologie de la minéralisation (avec Gand, Maastricht, Modène)
  - Mutations de *ABCC6* (Gand)
  - Epidémiologie des complications cardio-vasculaires (Budapest)
  - PXE et hémoglobinopathie (Honolulu)
  - Facteur sérique circulant (Honolulu)
  - Effet du sérum PXE sur des peaux reconstruites (projet soumis pour financement à la Société Française de Dermatologie) (avec Brest)
- Sur Angers :
  - Caractérisation fonctionnelle artérielle des souris *Abcc6* -/-.
  - ✓ Projet ANR Genopat 2008 **artPXE** (Caractérisation fonctionnelle et anatomique des atteintes artérielles microvasculaires dans les modèles murins de pseudoxanthome élastique): projet qui n'a malheureusement pas été retenu
  - ✓ FRM: salaire d'un DES pendant un an (Y Le Corre): 11/08 - 11/09

## CONCLUSION

### La place du déficit en inhibiteurs de la minéralisation :

Dans le PXE, les patients calcifient manifestement trop, il y aurait un déséquilibre de la minéralisation => ceci est clé dans la compréhension du PXE d'ici 3 à 5 ans.

## Poursuite des collaborations avec les équipes internationales de recherche sur le PXE



## Techniques d'exploration artérielle chez les souris *Abcc6* -/-

Dr Sébastien Faure  
Maître de Conférence Université d'Angers

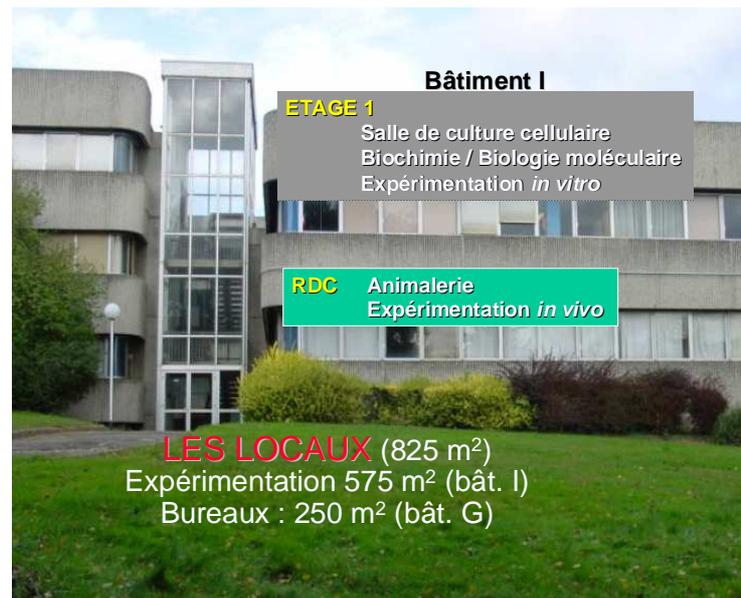
Sébastien Faure nous présente l'unité médicale de recherche de biologie neuro-vasculaire:



Directeur : Daniel Henrion, pharmacien.  
Equipe de recherche d'une vingtaine de personnes qu'à rejoint Ludovic Martin.

LES LOCAUX (825 m<sup>2</sup>) sont composés :

- Expérimentation 575 m<sup>2</sup> (bât. I)
- Bureaux : 250 m<sup>2</sup> (bât. G)
- Bâtiment I :
  - RDC
    - Animalerie
    - Expérimentation *in vivo*
  - ETAGE 1
    - Salle de culture cellulaire
    - Biochimie / Biologie moléculaire
    - Expérimentation *in vitro*

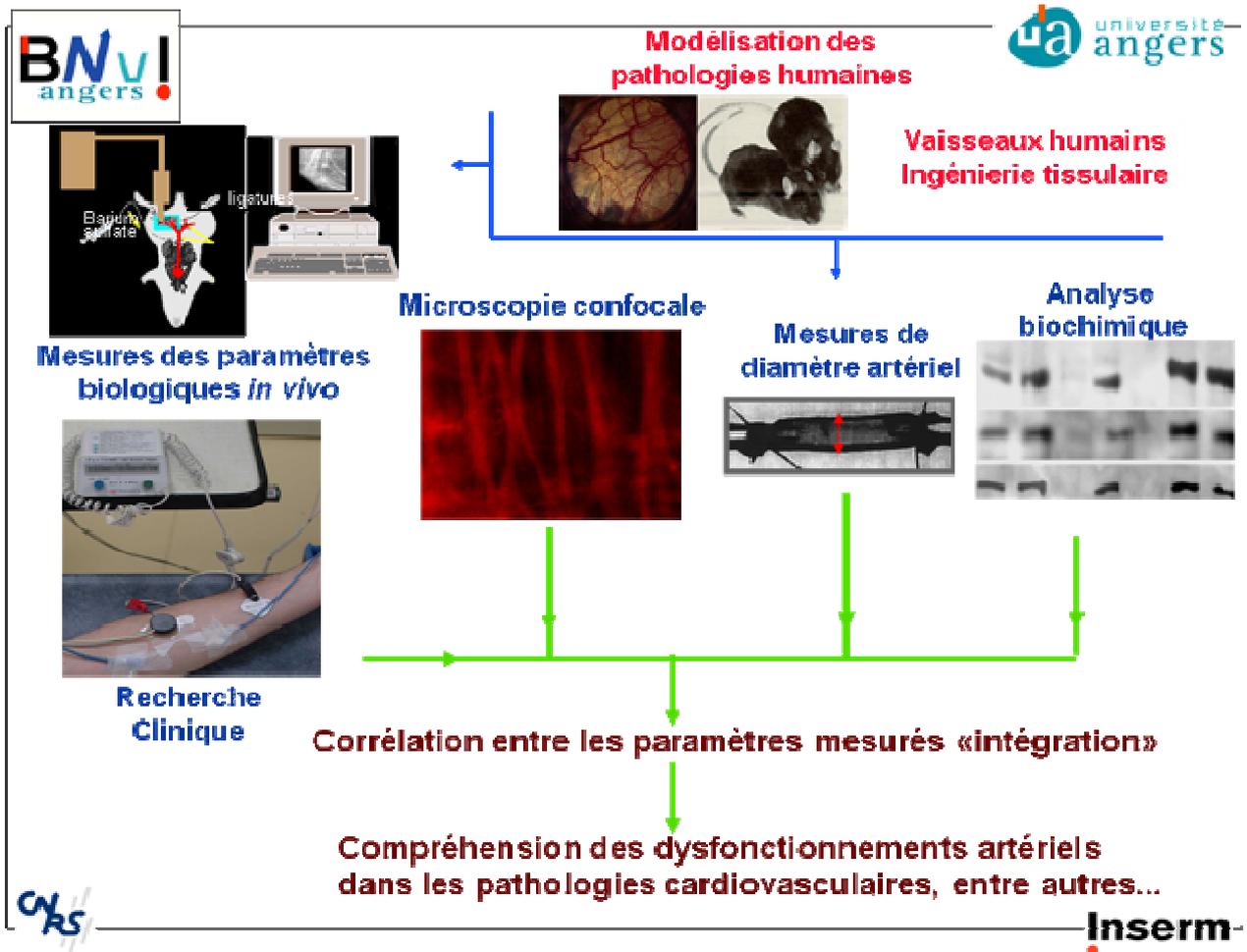


Les équipes de Daniel HENRION travaillent autour de 6 thèmes majeurs dont Sébastien FAURE nous explique l'un d'entre eux en lien direct avec la recherche sur le PXE :

**« Mécanotransduction de la pression et du débit dans la microcirculation et implication des systèmes neuro-humoraux locaux (D HENRION) » :**

- Voies de signalisation impliquées dans la réponse microvasculaire à la pression et au débit
- Rôle du cytosquelette dans la réponse vasculaire à la pression et au débit
- Interaction entre facteurs mécaniques et facteurs humoraux dans le contrôle du tonus vasculaire
- Effet des variations chroniques de débit et de pression sur la mécanotransduction microvasculaire (remodelage génotypique et phénotypique)
- Pharmacologie et physiologie des artères de résistance humaines
- Pharmacogénétique : polymorphismes génétiques et fonctions vasculaires

L'étude des artères isolées est la spécificité de ce laboratoire : influence de différents paramètres sur la taille et la constitution des artères et les désordres qui peuvent apparaître comme la mesure des radicaux libres caractéristiques du stress oxydant.



L'équipe se concentre sur l'exploration du tonus, de la résistance des artères et de leur réponse à la pression et au débit.

A partir de la modélisation des pathologies humaines chez les animaux (souris mutées et souris témoins) et de l'ingénierie tissulaire (technique des tissus humains reconstitués artificiellement), les chercheurs s'appuient sur :

- Des mesures des paramètres biologiques ex vitro
- La microscopie confocale pour étudier les déplacements et les migrations au niveau des cellules.
- Des mesures de diamètre artériel
- L'analyse biochimique
- La recherche clinique (sur les patients)

On teste la réactivité cellulaire à tel ou tel stimuli, on procède à l'analyse biochimique pour identifier les protéines mises en jeu, on étudie les déplacements et les migrations par microscopie confocale au niveau des cellules.

La corrélation de ces différentes sources d'informations permet l'intégration de tous les paramètres mesurés pour identifier ce qui peut dysfonctionner au niveau des artères dans les pathologies cardiovasculaires, entre autres...

### Vasoconstriction/vasodilatation :



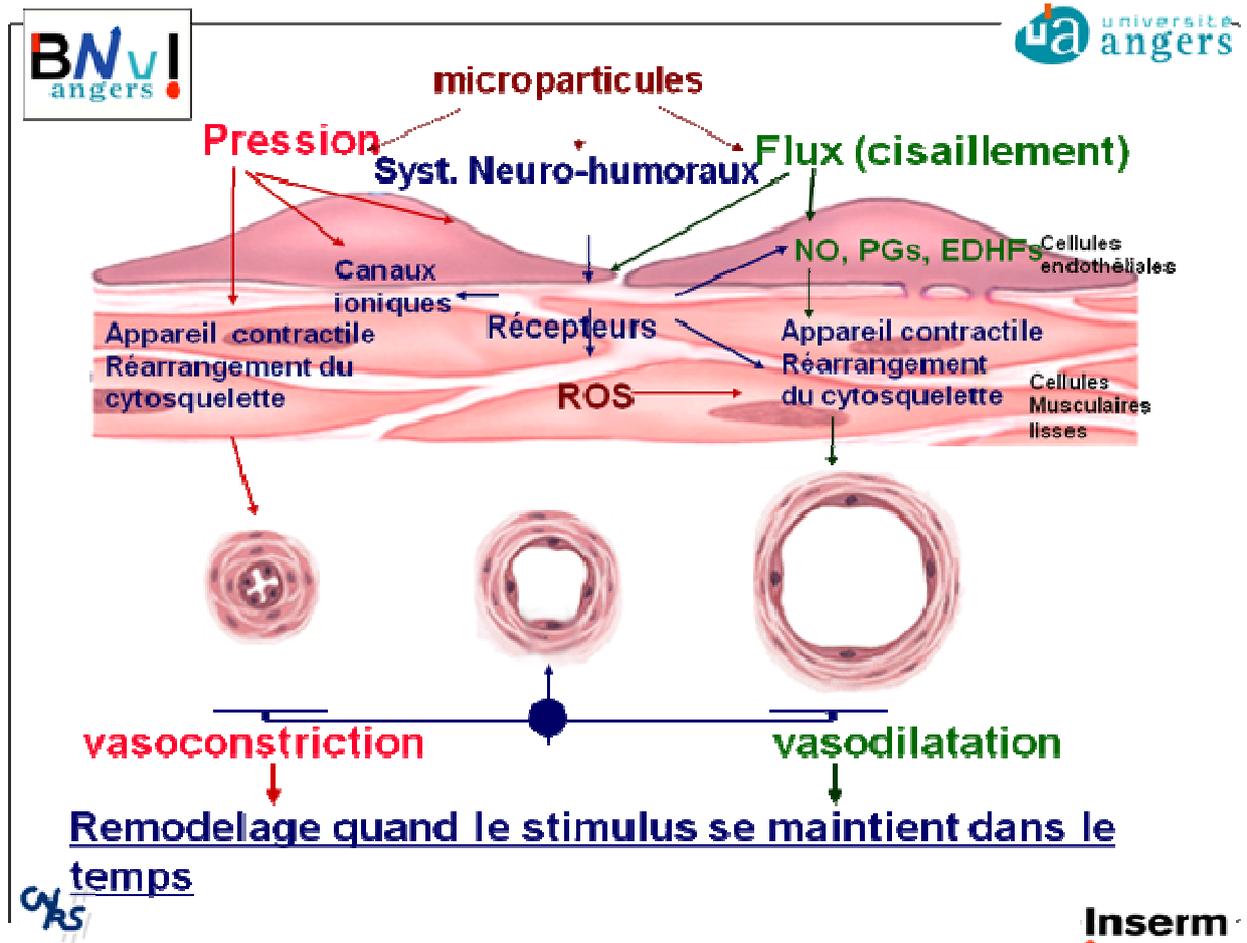
Il existe dans l'organisme un équilibre ou « balance » entre la vasoconstriction et la vasodilatation. Les artères de résistance ont un tonus basal résultant d'une balance entre différents systèmes vaso actifs.

On étudie la stimulation à long terme de ce système « vasoconstriction/vasodilatation » et on constate une adaptation structurale et fonctionnelle de l'artère => cette adaptation est appelée « remodelage » par un réarrangement du cytosquelette, tissu constitutif de la paroi externe de l'artère. La question est de savoir pourquoi parfois cette adaptation ne se réalise pas.

La stimulation exercée peut être au niveau des cellules endothéliales constitutives de la paroi interne des artères:

- La pression qui agit de façon uniforme et centripète
- Le débit à travers l'artère qui par le flux de sang génère un effort de cisaillement le long de l'artère.

La réponse de vasoconstriction et vasodilatation met en jeu les systèmes neuro-humoraux.



Ce mécanisme peut être altéré par l'HTA (hyper tension artérielle), les troubles neuro-vasculaires, le vieillissement, le diabète, l'obésité...

### Equipement du laboratoire :

- Monitoring hémodynamique et débit microcirculatoire
- Laser Doppler capillaroscopie dynamique
- Biologie moléculaire
- Biologie cellulaire
- Artériographie et myographie – artères isolées
- Culture organotypique – artères isolées
- Histomorphologie et immunohistologie
- Microscopie confocale dynamique
- Résonance paramagnétique électronique
- Bio-informatique – Modélisation moléculaire

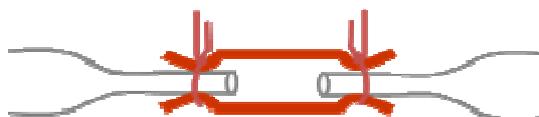
### Artères mésentériques :

Le laboratoire travaille un modèle de microcirculation à partir d'artères mésentériques qui se trouvent autour de l'intestin de la souris (200 à 300 $\mu$ ). Elles sont étudiées par l'artériographie (étude des pressions) et la myographie (étude de la capacité à se contracter et se dilater en réponse à des agents pharmacologiques). Etude des cellules musculaires dans la paroi des artères qui participent à la contraction des vaisseaux.



### Artériographie :

- Cannulation d'artères de résistance entre deux pipettes
- Etude des modifications de pression et de flux sur la réactivité vasculaire



### Myographie :

Cuves à organes isolées

Etude de la réactivité vasculaire en réponse à des agents pharmacologiques

### Histologie :

Marquage des protéines et des radicaux libres dans les parois

Coupe de micro vaisseaux inclus dans un milieu Tissue Tek à l'aide d'un microtome Leica®

Coloration des micro vaisseaux à l'orceine et à l'eau lithinée

### Biochimie :

Extractions protéiques et dosages, spectroscopie de masse

Etude de la réponse à la pression dans les artères mésentériques et carotides de souris contrôle et desmine +/- : Diamètre passif, tonus actif, dilatation.

## **Consultation pluridisciplinaire d'ANGERS**

**Florent CHUPIN, Line BOSQUET, Laurence GARNIER et Hélène HUMEAU,**  
**Cadre infirmier et infirmières de la consultation pluridisciplinaire PXE du CHU d'Angers**

L'évolution professionnelle du Dr MARTIN a amené le transfert de sa consultation créée à Orléans vers Angers où il a désormais son nouveau poste.

Une spécificité du CHU d'Angers est « Cœur Vaisseaux Métabolisme » qui correspond parfaitement avec le contexte du PXE.

Le fonctionnement de la consultation est identique à celui d'Orléans : le principe est de contracter sur un laps de temps le plus bref possible un maximum d'examen => 3 jours pour un bilan complet. Si le patient a un problème particulier ou s'il ne s'agit pas d'un bilan initial mais d'un suivi, le temps de consultation peut éventuellement être écourté.

Objectif : Faire le point de la pathologie et le mettre en perspective par rapport à la personne individuelle => ceci est un travail d'équipe.

Il est aussi important d'instaurer un dialogue avec les médecins de ville qui suivent les patients près de chez eux.

## **Les avantages d'Angers :**

- **Angers est un Centre Hospitalier Universitaire (pas Orléans)**
  - ✓ Plus de moyens humains, techniques et financiers
  - ✓ L. MARTIN a désormais une activité statutaire de recherche
  - ✓ Le PXE est dans un axe prioritaire du CHU « cœur-vasseaux-métabolisme »
- **Objectif : la labellisation en centre de référence**
- **La nouvelle équipe de recherche Unité Mixte de Recherche INSERM 771 / CNRS 6214 « Biologie NeuroVasculaire Intégrée »**
  - ✓ **Directeur : Dr Daniel Henrion (pharmacien)**
  - ✓ **Thématiques :**
    - Thème 1 : Mécanotransduction de la pression et du débit dans la microcirculation et implication des systèmes neuro-humoraux locaux
    - Thème 2 : Rôle du cytosquelette dans la mécanotransduction de la microcirculation
    - Thème 3 : Bio-informatique structurale des récepteurs couplés aux protéines G
    - Thème 4 : Contrôle nerveux des circulations régionales et de la microcirculation
    - Thème 5 : Stress oxydant et pathologies vasculaires inflammatoires
    - Thème 6 : Interactions cellules circulantes et cellules de la paroi vasculaire

### Remarque importante :

Il est toujours possible de consulter les praticiens de la Consultation médicale d'Orléans, notamment en ophtalmologie avec le Dr Pierre BONICEL.

## **La planification :**

Les rendez-vous se prennent auprès du secrétariat au **02 41 35 34 19**, de 9h00 à 12h00 et 14h00 à 17h00.

Il est nécessaire de bien annoncer systématiquement lors de la prise de rendez-vous qu'il s'agit d'un PXE.

## **La consultation :**

Pour un premier rendez-vous, la consultation initiale (pour les personnes qui n'ont jamais consulté à Angers) dure environ 3/4h.

## **L'hospitalisation :**

Pour un bilan complet, l'hospitalisation est de 3 jours, généralement en début de semaine.

Les dossiers d'Orléans suivent à Angers sans aucun problème, il n'est donc pas nécessaire de tout reprendre à zéro.

La fréquence recommandée est d'un bilan complet en hospitalisation tous les 3 ans sauf complication particulière demandant un suivi plus spécifique.

Les urgences ophtalmologiques peuvent être prises en charge le jeudi.

## **Déroulement :**

L'arrivée dans le service de dermatologie se fait le lundi matin ou lundi après-midi.

- **Lundi matin :**
  - Consultation cardiologique (Pr A Furber)
  - Echographie cœur (Dr J Laporte)
- **Lundi après-midi :**
  - Consultation dermatologie + biopsie (Dr L Martin)
  - Consultations non systématiques, si nécessaire
- **Mardi matin :**
  - Prélèvements sanguins
  - Consultation ophtalmologique (Dr JM Ebran)
- **Mardi après-midi :**
  - Epreuves fonctionnelles vasculaires (Pr G Leftheriotis)
  - Consultation cardiologique (Pr F Prunier)
  - Echographie cœur (Dr J Laporte)
- **Mercredi matin :**
  - Synthèse (Dr L Martin)
- **Mercredi après-midi :**
  - IRM cardiaque ? (Pr A Furber)
  - Compte-rendu d'hospitalisation adressé à tous les correspondants médicaux et au patient.

## **Hébergement des accompagnants :**

Les accompagnants des patients peuvent loger à proximité de l'hôpital au :

LOGIS Frédéric OZANAM  
Association Saint Vincent de Paul  
8, impasse du Sauvage  
49100 ANGERS  
Tél : 02 41 86 00 86